

体细胞胚胎发生: 植物体细胞命运的重塑

唐丽苹, 李兴国, 张宪省, 苏英华*

作物生物学国家重点实验室, 山东农业大学生命科学学院, 山东泰安271018

摘要: 植物细胞在合适的培养条件下具有发育成完整新个体的潜力, 这种潜力被称为植物细胞全能性。体细胞胚胎发生是植物细胞全能性的一个充分体现, 其本质是体细胞的发育命运发生重塑, 重新获取细胞全能性, 从而再分化为完整个体的过程。对于这一复杂过程的调控机制, 目前的认识仍十分有限。本文系统总结了体细胞胚胎发生的多种调控途径, 包括激素的诱导、胁迫的作用、胚胎发育相关转录因子及表观遗传调控等对体细胞胚胎发生的作用。

关键词: 体细胞胚胎发生; 细胞全能性; 转录因子; 表观遗传调控

在开花植物的有性生殖过程中, 合子由卵细胞经过受精后形成。合子经过多次细胞分裂, 继而发育成成熟胚胎并包裹于种皮之内, 种子萌发后再发育成包含不同组织器官的完整植株。植物是具有可塑性的有机体, 不仅能够植株上持续分化形成新的组织或器官, 在伤害胁迫或离体培养时, 也能够诱导外植体再生新的不同类型的组织或器官, 体现出植物细胞的多能性。植物细胞也具有获得全能性的潜力, 即植物的每个细胞都有发育成完整个体所需的全部遗传信息, 因而在合适的培养条件下能够发育成完整的新个体。合子最终发育成完整植株也是细胞全能性(cell totipotency)的表现。以Schwann和Schleiden创立的细胞学说为基础, 一个多世纪前, 德国著名植物生理学家Haberlandt (1902)提出了“细胞全能性”的概念。在其后的50年间, 这一理论一直未能通过实验证明。直到半个多世纪前, Steward等(1958)对胡萝卜(*Daucus carota*)根的韧皮部细胞进行离体培养, 发现这些细胞失去了已分化细胞的结构特征并发生了多次细胞分裂, 继而形成了体细胞胚(somatic embryo), 并最终发育成具有根、茎、叶等器官的完整植株。这是科研工作者第一次利用实验手段证实植物体细胞能够获得细胞全能性。而体细胞胚胎发生(somatic embryogenesis)长期以来作为研究合子胚胎发生与发育的一个模式系统, 也被认为是细胞全能性表现的范例。

本文就体细胞胚的来源和细胞学特征进行了探讨, 并系统总结了目前已知的影响体细胞胚胎

发生的多种调控途径, 包括激素的诱导、胁迫反应的作用、胚胎发育相关转录因子及表观遗传调控等, 为深入理解体细胞胚胎发生的分子机制及细胞全能性的研究提供参考信息。

1 体细胞胚胎发生的特性

被子植物从双受精形成合子开始, 到胚胎发育成熟成为种子, 这个发育过程先后经历了合子激活、细胞的分裂与分化、极性的建立、模式的建成及器官的形成等, 且胚胎发育受到精确的遗传调控。受精前的卵细胞在代谢上相对静止, 只有在与精细胞融合之后, 才能被激活从而启动胚胎发育的过程(蒋丽等2007)。体细胞胚的起始却与之不同, 它是由体细胞或营养细胞改变分化命运发育而来的胚胎。体细胞胚胎发生是植物体细胞在未经性细胞融合的情况下, 模拟有性的合子胚胎发生发育形成一个新个体的形态发生过程。以胡萝卜下胚轴为外植体进行细胞悬浮培养诱导体细胞胚的过程中观察到, 诱导早期的体细胞分裂模式与合子胚胎发生是不一样的, 并不按照合子早期规则的分裂进行, 而是按照其独特的分裂模式形成多细胞团(Backs-Hüsemann和Reinert 1970)。细胞学的研究证明这些细胞团结构紧密、

收稿 2020-04-21 修定 2020-06-18

资助 国家自然科学基金(31730008和31872669)和山东省自然科学基金(ZR2017JL016)。

* 通讯作者(suyh@sdaa.edu.cn)。

细胞质浓厚、含有淀粉并保持活跃的分裂状态, 被称为胚性细胞团。体细胞胚可能由这种胚性细胞团表面的个别细胞起源, 或是由胚性细胞团的大部分甚至全部细胞发育而来。但后期形成的体细胞胚会经历与合子胚相似的发育过程, 不仅在外型上而且在结构上都与合子胚很相似。成熟的体细胞胚是具有两个顶端分生组织的完整结构, 即经过多次的细胞分裂、分化, 进而建立起轴向极性, 形成能够发育成芽的茎尖分生组织和能够发育成根的根尖分生组织, 而这也是体细胞胚区别于芽或根这样的单极离体再生结构的主要特征。

体细胞胚不需要经过受精的过程, 可以由体细胞直接转变发育而来, 但这个过程需要特定的培养条件, 如以激素环境、分子调控等因素作为起始信号。除胡萝卜体细胞胚的诱导外, 此后的诸多研究证明, 以已经分化的体细胞(如来源于茎、叶或茎尖的细胞)作为外植体, 在合适的条件下都可以获得与合子胚形态相似的体细胞胚(Kamada等1989; Nishiwaki等2000; Kadokura等2018)。Ikeda-Iwai等(2003)以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)幼苗中的茎尖分生组织为外植体成功诱导出体细胞胚。而一些植物的小孢子可以先重置其分化命运, 再经体细胞胚胎发生途径形成单倍体植株, 这一过程被称为小孢子胚胎发生。在这一过程中, 当小孢子受到饥饿或高温等外界环境胁迫时, 配子体的发育就会停滞, 细胞发生重编程从而开启胚胎发育模式, 我们把这一过程称为细胞全能性的获得; 此时再将小孢子转移到正常的培养环境中, 它便会持续分裂, 最终形成体细胞胚(Touraev和Heberle-Bors 1999)。但这一过程中调控小孢子细胞重编程获得全能性的分子机制还不清楚。在柑橘(*Citrus reticulata*)中, 利用原生质体融合技术诱导体细胞胚胎发生是获得体细胞杂种的主要手段。30多年前, 日本学者Ohgawara等(1985)通过原生质体融合技术首次获得甜橙(*C. sinensis*)与枳属(*Poncirus*)间体细胞杂种, 为柑橘原生质体融合研究奠定了基础。迄今为止, 我国以及美国、日本、法国、西班牙、意大利等国均开展了类似研究, 获得了200余例柑橘体细胞杂种(Grosser等2005)。

体细胞胚胎发生技术是一种无性繁殖技术,

能使少量的优质种子得以快速扩繁。目前, 已运用此项技术大规模繁殖珍稀植物物种, 并使许多林木和园艺植物的优良基因型达到商业化繁殖水平。体细胞胚胎发生也是植物转基因的一个有效再生体系(Park 2014)。由于体细胞胚比受精卵更容易获得和批量生产, 因此体细胞胚胎发生还是研究胚胎发育机制的重要研究体系。另外, 体细胞胚也是制备人工种子的基础(Sharma等2013)。

2 体细胞胚的直接和间接发生方式

体细胞胚的发生方式多种多样, 分为两种主要的方式, 即直接发生和间接发生。这两种方式有时同时发生在同一外植体上, 因此很难区分。间接发生是最常见的发生方式, 一般指植物外植体细胞先形成胚性愈伤组织, 由一团看似无组织但有一定致密性的胚性细胞(具有全能性潜力的细胞)组成, 再由胚性细胞团中的某个或某些特定的胚性细胞(获得全能性的细胞)分化形成体细胞胚; 而直接发生绕过了胚性愈伤组织形成阶段, 直接诱导体细胞分化为全能性细胞, 进而发育形成体细胞胚(崔凯荣和戴若兰2000)。由于直接发生方式不形成愈伤组织, 体细胞会表现出更为规则的细胞分裂。直接发生和间接发生所形成的体细胞胚在形态学上很相似, 但是间接发生的体细胞胚的培养周期更长一些, 且发生频率更高(Miguel和Marum 2011)。在体细胞胚胎发生过程中, 全能性细胞的起始是最关键的科学问题。关于体细胞胚的细胞起源问题有两种截然不同的观点。20世纪70年代的研究表明, 体细胞胚可能发生于植物组织的内部或周边(Tisserat 1979), 最初的体细胞胚被认为来源于成团的细胞群, 随后的一些研究也证实存在体细胞胚的单细胞起源(Taylor和Vasil 1996; Rojas-Herrera 2002)。目前多数研究者认为, 体细胞胚的间接发生可能起源于多细胞, 而直接发生更有可能起源于单细胞。由于植物的种类、外植体的类别或外植体所处的生理状态不同, 体细胞胚的起源方式也会不同。从已有的研究结果来看, 外植体经历直接或间接体细胞胚胎发生的能力很大程度上取决于外植体的年龄, 即离合子胚阶段越远, 外植体的体细胞获得全能性所需的

重编程就越复杂,越需要先形成胚性愈伤组织获得胚性细胞环境,继而引发出多细胞起源的体细胞胚(Horstman等2017)。目前,由于缺乏全能性细胞适合的分子标记而难以获得充足的实验证据来直观地证明体细胞胚是单细胞起源还是多细胞起源,这仍然是科学家们未来需要解决的关键科学问题。

3 体细胞命运重塑的细胞学特征

在体细胞胚胎发生过程中,外植体的体细胞改变分化命运,获得全能性而进入体细胞胚胎发生这一新途径(Fehér等2003)。由已处于分化状态的植物体细胞转变为全能性细胞并最终形成胚胎的机制成为发育生物学领域最重要的科学问题之一。有文献报道,体细胞发育命运的这种巨大变化需要细胞首先获得分裂能力(Nagata 2010)。在细胞分裂过程中,细胞必须改变现有的发育信息以便对新的信号作出反应(Fehér等2003)。通过对不同物种外植体的研究,发现细胞分裂的方向可以作为体细胞命运发生变化的标志。在拟南芥体细胞胚直接发生的过程中,参与体细胞胚形成的表皮原细胞会进行平周分裂(Kulinska-Lukaszczuk等2012)。这种细胞分裂的方向在表皮原细胞中是不常见的,因为在正常情况下表皮原细胞进行的是垂周分裂(Considine和Knox 1981),使所有子细胞都分布在组织的表层;而平周分裂意味着表皮原细胞的两个子细胞有了不同的生理环境,其中表层的子细胞仍然发育成表皮细胞与外部环境相联系,而内层的另一个子细胞可能改变了表皮细胞的发育方向。

体细胞胚通常来源于外植体的分生组织区域,这种特性不仅在直接的体细胞胚胎发生中很典型,在间接体细胞胚胎发生中也很突出。植物分生组织细胞在组织学、形态学和超微结构上与能够诱导体细胞胚胎发生的胚性细胞有相似之处。分生组织细胞一般胞质致密,含有大量的核糖体和线粒体,有较多的小液泡和一定量的淀粉粒,核体积大并位于细胞中央,有一个或两个核仁(Verdeil等2001)。而能够诱导体细胞胚胎发生的胚性细胞的特点是:细胞体积小,多呈球形,细胞质稠密,细胞核位于细胞中心,有一个较大的核仁以及小的淀

粉粒和液泡(Namasivayam等2006)。从以上分生组织细胞和胚性细胞的特征来看,这两类细胞差异并不明显,因此胚性细胞很容易诱导自与其细胞结构特征相似的分生组织类型细胞。但并不是所有的分生组织细胞都能分化成胚性细胞,也不是所有的胚性细胞都能获得全能性并成功发育成体细胞胚,这可能与细胞的生理状态和响应诱导条件的程度有关。由于缺乏合适的分子标记,很难去识别胚性细胞中已经获得全能性的细胞,因此全能性细胞的特征我们还并不清楚。

体细胞的命运和分化方向的改变依赖于原有基因表达程序的消除和新基因表达程序的启动。有研究表明,基因表达及体细胞发育程序的改变依赖于细胞与周围环境的物理隔离。植物细胞具有独特的细胞壁系统,是细胞发生信号交流和转导的地方(Fry等1993)。多项研究表明,获得全能性并具有胚胎发生能力的胚性细胞一般具有较厚的细胞壁(Mikuła等2004),使其能够与周围不具备胚胎发生能力的细胞分离,可能是这些胚性细胞形成体细胞胚的必要条件。胼胝质是存在于不同植物细胞中的1,3- β -葡聚糖(Gibeault和Carpita 1994),当其在细胞壁沉积时,能中断通过胞间连丝的细胞间信号通讯。细胞超微结构和组织学研究表明,在菊苣属(*Cichorium*)植物的体细胞胚胎发生过程中,细胞的第一个明显变化就是胼胝质在细胞壁中的过量沉积(Verdus等1993)。对刺五加(*Eleutherococcus senticosus*)的外植体进行体细胞胚的诱导后,与未诱导的外植体相比,细胞壁沉积的胼胝质数量明显增加(You等2006)。这些结果表明,细胞间通讯的中断可能会刺激体细胞发生发育命运的重塑,重编程为全能性细胞并形成体细胞胚。在LEAFY COTYLEDON 2 (LEC2)等调控胚胎发生的转录因子过表达的拟南芥株系中,营养组织的体细胞将其发育命运转变为胚性状态,并诱导体细胞胚的形成(Feeney等2013)。其胚性细胞的一大特征是细胞质中充满油体,而较小的裂解液泡积聚蛋白质,表明LEC2诱导这些细胞中种子贮藏蛋白积累和油体的积聚;这些细胞特征通常发生在合子胚胎发生的成熟阶段(Stone等2008)。了解体细胞胚胎发生早期阶段细胞分化方向发生改

变的细胞学特征有助于理解这一过程中细胞命运重塑的机制。

4 体细胞胚胎发生的调控途径

体细胞胚胎发生是植物细胞的重编程, 包括细胞代谢和基因表达的变化、表观遗传的调控和细胞发育命运的改变等生物学过程。最常见的诱导方式是在植物生长调节剂或胁迫因素的处理下, 将植物外植体置于培养基上进行体外诱导培养。由于不同的植物细胞所处的环境条件和应激反应的差异, 细胞的发育命运很难人为控制, 会导致各种可能的结果, 包括细胞分化方向改变、细胞凋亡、细胞增殖、分生组织干细胞的形成或胚胎发生, 这在很大程度上取决于外植体的类型和所用的诱导条件。

4.1 激素和胁迫处理诱导体细胞胚胎发生

在诱导体细胞胚胎发生的多种外源刺激条件下, 植物激素一直发挥着主导作用, 添加激素等植物生长调节剂能够诱导细胞分裂和细胞分化方向的改变。通过对外植体的类型、培养的条件及激素的浓度等因素进行调整优化, 许多种类的植物最终都能够成功诱导体细胞胚的产生(Awasthi等2017; Márquez-López等2018)。多数物种体细胞胚的诱导过程都依赖生长素的调节作用, 有时也与细胞分裂素协同使用进行诱导(Gaj 2004)。诱导体细胞胚应用最广泛的激素是一种人工合成的植物生长调节剂2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D), 它具有很强的类生长素活性(Gaj 2001)。外源生长素的使用能够显著地改变组织内源生长素的合成和代谢, 例如, 以拟南芥未成熟的幼胚作为外植体, 首先用高浓度的2,4-D诱导胚性愈伤组织的形成, 然后从培养基中去除2,4-D, 激活编码生长素生物合成酶基因*YUCCA2* (*YUC2*)和*YUC4*的表达, 导致胚性愈伤组织中内源吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)水平升高; 与此同时, 细胞分裂素的响应信号也出现在胚根特定区域, 最终建立起体细胞胚的茎尖-根尖轴向系统而形成完整的体细胞胚(图1; Su等2009, 2015)。在胡萝卜的体细胞胚诱导培养基中添加2,4-D亦能诱导体细胞胚的形成, 这也与内源性IAA水平的增加有关

(Michalczuk等1992)。在以延胡索(*Corydalis yanhusuo*)块茎为外植体进行体细胞胚诱导的过程中, 同时施加萘乙酸(1-naphthaleneacetic acid, NAA)与人工合成细胞分裂素6-苄氨基嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA), 能够诱导胚性愈伤组织的形成, 而在继代培养基中只需单独添加细胞分裂素就能够诱导体细胞胚的形成(Sagare等2000)。过量的乙烯会干扰拟南芥体细胞胚的形成(Bai等2013), 诱导体细胞胚的过程中去除2,4-D后, 乙烯的合成和信号转导会严重下调, 可能是由于胚性愈伤组织中内源生长素合成的增加抑制乙烯的产生(Bai等2013)。脱落酸在拟南芥体细胞胚的起始过程中也是必需的。在胚性愈伤组织的形成过程中, 内源脱落酸含量上升; 而当外施脱落酸合成抑制剂或突变脱落酸合成基因*ABA DEFICIENT 2* (*ABA2*)后, 体细胞胚形成的频率大幅下降。经研究发现, 脱落酸通过调节生长素的合成与运输来影响体细胞胚的形成(Su等2013)。许多其他生物与非生物胁迫也参与诱导体细胞胚的形成。激发或促进体细胞胚胎发生的非生物胁迫条件包括渗透胁迫、重金属、温度、紫外线辐射、伤害和化学处理等(Fehér 2015)。研究显示, 在以洋芋(*Solanum tuberosum*)的叶片和茎节间为外植体进行体细胞胚诱导的过程中, 在只包含2,4-D和6-BA的培养基里进行培养, 将会形成松散型愈伤组织而无法诱导任何器官的再生; 而当在培养基中添加AgNO₃后, 这种情况便得到改善, 并能够形成正常的体细胞胚(Kaur等2018)。如果在分化培养基中添加174 mmol·L⁻¹蔗糖并将外植体置于50℃条件中热激1 h, 会使体细胞胚的分化效率大幅升高(Kaur等2018)。在以欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)成熟胚为外植体诱导体细胞胚的过程中, 胚性愈伤组织形成后要去除生长素并添加脱落酸, 还需要额外利用聚乙二醇对细胞团进行干燥处理, 这样才能够诱导体细胞胚形成(Salo等2016)。在以茜草(*Rubia cordifolia*)的节间段为外植体进行体细胞胚诱导的过程中, 胚性愈伤组织需要被转移至只含有高浓度2,4-D的营养性缺乏环境中, 即在除了2,4-D不含有其他任何营养物质的培养基中培养20周才能诱导体细胞胚形成(Krishnan和Siril 2017)。在以刺五加的合子

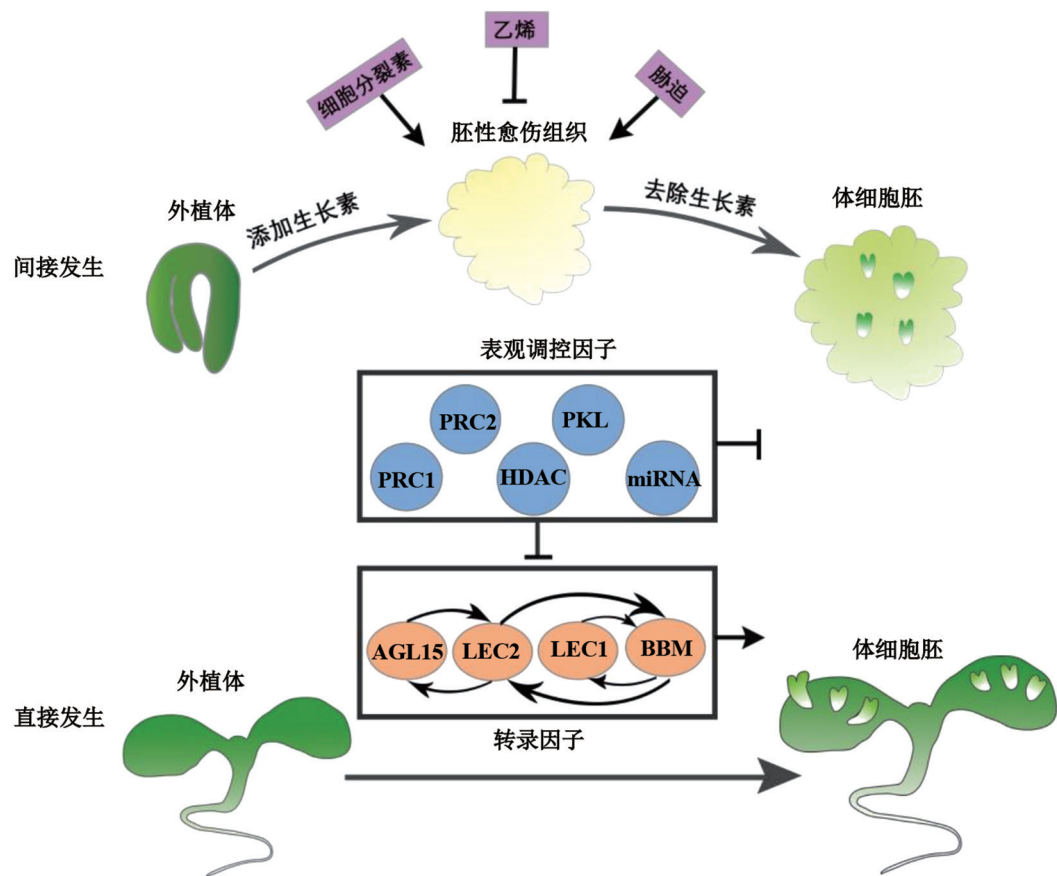


图1 体细胞胚胎发生中诱导体细胞命运重塑的关键调控因子

Fig.1 Key regulators on somatic cell remodeling in somatic embryogenesis

在间接体细胞胚胎发生中,以拟南芥合子胚为外植体,在生长素的诱导下形成胚性愈伤组织;然后去除生长素,诱导愈伤组织内源生长素的合成,从而形成体细胞胚。在此过程中,细胞分裂素可以与生长素协同作用,乙烯抑制体细胞胚的诱导,而胁迫作用能够激发或促进体细胞胚胎发生。在直接体细胞胚胎发生中,过量表达关键胚胎发育相关转录因子AGL15、LEC1、LEC2和BBM等能够诱导体细胞发育命运发生重塑,向全能性细胞转变从而形成体细胞胚。这些转录因子之间形成一个相互调节的调控网络共同作用。在此过程中,表观调控因子需要解除对转录因子的抑制作用。

胚为外植体诱导体细胞胚产生过程中,先利用甘露醇对外植体进行预处理,使细胞发生质壁分离,随后转移至不含有生长素的培养基上培养,就能够在下胚轴的表面诱导出大量的体细胞胚(You等2006)。在这个过程中,细胞先发生胁迫应激反应,随后细胞的分化命运朝着胚胎发育的方向发生改变。蔗糖作为组织培养的主要能量来源被广泛应用,它能够为细胞的体外培养提供适当的渗透条件。不同种类及浓度的蔗糖对体细胞胚的诱导也能产生影响。如石刁柏(*Asparagus officinalis*) (Levi和Sink 1990)、菊苣(*Cichorium intybus*) (Vasseur等

1995)、小麦(*Triticum aestivum*) (Barro等1999)和狼尾草(*Pennisetum alopecuroides*) (Oldach等2001)等的体细胞胚诱导过程中,蔗糖作为主要的胁迫诱导因子发挥重要作用。蔗糖在拟南芥的直接或间接的体细胞胚胎发生过程中也是必需的(Gaj 2001)。

如果将胁迫与高浓度的生长素结合使用,可以更有效地提高体细胞向胚性细胞转变的效率。例如,以拟南芥的茎尖为外植体,预先在不含任何植物激素仅添加了山梨醇、甘露醇、蔗糖和氯化钠或氯化镉的培养基上培养,随后转至只添加

2,4-D的培养基上培养,一段时间后在茎尖观察到体细胞胚的形成(Ikeda-Iwai等2003)。但如果将茎尖预先干燥20 min,再转移至含有2,4-D的培养基上培养,也能够诱导体细胞胚的形成。在吊兰(*Chlorophytum comosum*)体细胞胚诱导过程中,添加盐(氯化钠)或改变细胞内渗透压(山梨醇),同时添加2,4-D,能够大幅度提高胚性愈伤组织的比例(Agila等2015)。在人参(*Panax ginseng*)中,利用脱落酸和聚乙二醇同时处理外植体,能够显著提高体细胞胚的再生效率(Langhansová等2004)。而在裸子植物中,脱落酸和聚乙二醇的联合使用也已被证明能够促进体细胞胚的再生(Stasolla等2002)。例如在欧洲赤松中,通常需要先去除生长素、添加脱落酸以及随后使用聚乙二醇干燥处理来实现体细胞胚的再生(Salo等2016)。以上实验结果表明,胁迫因素的刺激能够促进体细胞的分化转向胚性细胞的方向,推测可能是胁迫因素使外植体细胞内的激素水平或是胚胎发育调控相关因子的表达水平发生了改变(Grzybkowska等2018),但胁迫处理诱导体细胞胚胎发生的分子机制还需要进一步深入研究。

4.2 胚胎发育相关转录因子过量表达诱导体细胞胚胎发生

除了外源施加激素等生长调节剂和胁迫处理等能够诱导体细胞胚胎发生外,通过调控胚胎发育的相关转录因子过量表达也能诱导体细胞胚的产生。这些转录因子如LEC1、LEC2和FUSCA 3 (FUS3)等在拟南芥合子胚胎发生和发育过程中发挥重要作用,它们突变后子叶均表现出真叶的特征,长出表皮毛。在这些决定细胞胚性特征的基因中,最先报道的是LEC1和LEC2,它们异位表达能够诱导体细胞胚胎发生(Lotan等1998; Stone等2001)。LEC1是HAP3家族的CCAAT结合转录因子(Lotan等1998; Kwong等2003),异位表达LEC1基因导致早期幼苗无法正常生长,多数情况下还伴有胚状体结构的形成(Lotan等1998)。因此,LEC1能够促进植物体细胞获取胚胎特征。LEC2和FUS3是VIVIPAROUS 1/ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3-LIKE B3 (VP1/ABI3-like B3)家族的转录因子(Luerßen等1998; Stone等2001),通过蛋白序列

比对可知,LEC2和FUS3拥有43%的同源性。异位表达LEC2基因可以促进体细胞胚发生(Stone等2001)。而FUS3特异地在顶端分生组织表达,在表层细胞异位过量表达FUS3基因能在茎尖分生组织诱导产生胚状体结构(Gazzarrini等2004)。另外,以这些lec突变体的合子胚作为外植体,在施加2,4-D的培养基上很难诱导体细胞胚的形成(Gaj等2005),表明LEC基因在体细胞胚诱导过程中起关键作用。研究发现,在体细胞胚胎发生体系中,LEC基因会在胚性组织中特异表达,其过量表达能够促进体细胞发生重编程向体细胞胚方向发育(Lotan等1998; Luerßen等1998; Stone等2001)。过量表达LEC基因在不含外源生长素的培养条件下也能诱导体细胞胚的形成,可能与激活生长素合成关键酶基因YUC2和YUC4的转录有关(Stone等2008),该过程引起植物组织内源生长素含量的增加,降低了细胞对外源生长素的需求,从而改变体细胞的分化命运,是体细胞胚成功诱导的关键所在。

过量表达MADS-box转录因子AGAMOUS-LIKE 15 (AGL15)能够提高形成体细胞胚的能力(Thakare等2008),而AGL15功能缺失能够降低体细胞胚再生的效率(Thakare等2008)。研究表明,AGL15介导多种调控途径来影响体细胞胚胎发生。首先,AGL15的表达受LEC2与生长素的调控(Braybrook等2006),而AGL15也反过来促进LEC2和FUS3的转录(Zheng等2009)。并且,AGL15与LEC2、FUS3协同诱导赤霉素氧化酶基因GIBBERELLIN 2-OXIDASE 6 (GA2ox6) (Wang等2004)和GA2ox2 (Zheng等2009)的表达,从而降低了组织内源活性赤霉素的含量。赤霉素负调节体细胞胚的再生,因此过表达GA2ox6能够很大程度提高体细胞胚的再生效率(Wang等2004)。另外,AGL15是SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE (SERK)复合体的组分(Karlova等2006)。AGL15过量表达后导致SERK1的表达水平提高。SERK1通常在原形成层和快速分裂的细胞中表达,能够维持多能性干细胞的数量。当利用2,4-D诱导体细胞胚形成时,SERK1的表达被激活,导致植物体细胞全能性被激活,从而向胚胎发育方向转变(Kwaaitaal和de Vries 2007)。因此,在外源施加生长素的

时候, *AGL15*同时过量表达能够显著提高生长素诱导的体细胞胚再生的效率(Hecht等2001)。*AGL15*还能够激活*APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR*转录因子的表达(Zheng等2013)。*AP2/ERF*属于植物特异的转录因子家族, 除了对植物细胞大小、株高和生殖能力产生多效性影响外, 还参与体细胞胚的诱导过程(Dietz等2010)。

*AP2/ERF*家族有多个成员能够调节体细胞胚胎发生。拟南芥*ERF*在苜蓿(*Medicago sativa*)中的同源基因*MtSERF1*是一种受乙烯诱导表达的基因, 在合子胚、快速增殖的胚性组织及体细胞胚中均有表达(Mantiri等2008), 敲除*MtSERF1*后能够抑制体细胞胚的再生。*AP2/ERF*家族的另一个成员*EMBRYOMAKER (EMK)*在拟南芥合子胚中特异表达, 能够维持胚性细胞的特性。异位表达*EMK*在拟南芥子叶上能够诱导体细胞胚(Tsuwamoto等2010)。而*AP2/ERF*家族中被研究得最多的是*BABY BOOM (BBM)*基因(Boutillier等2002), 属于*AINTEGUMENTA-LIKE (AIL)*基因亚家族。*BBM*在拟南芥合子胚发育的整个过程中都表达。在多个物种如拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)和油菜(*Brassica napus*)中异位表达*BBM*的同源基因都能够诱导体细胞胚的再生, 而不需要施加外源激素(Boutillier等2002; Lowe等2016; Zhang等2019)。当施加外源细胞分裂素时, *BBM*在烟草(*Nicotiana tabacum*)和甜椒(*Capsicum annuum*)中也能够诱导体细胞胚的再生(Srinivasan等2007; Heidmann等2011)。此外, *BBM*过量表达还能够诱导其他类型器官的离体发生, 包括诱导愈伤组织以及不定芽和离体根的形成。*BBM*诱导体细胞胚的特性已被应用于改善作物的离体再生与转化系统(Deng等2009; Florez等2015)。在以玉米幼胚为转化材料的转化过程中, 同时过量表达玉米中*BBM*与*WUS*基因, 能够大大提高直接体细胞胚的再生频率(Lowe等2016)。在未受精的卵细胞中异位表达水稻*BBM1*基因, 能够诱导水稻的孤雌生殖(Khanday等2019)。最近研究证明, *LEC/AGL15*等基因是*BBM*介导的体细胞胚胎发生的正调控因子, 而且*BBM*作为转录因子通过直接激活*LEC1*、*LEC2*和*FUS3*等的转录来起作用。因此, 当分别在*lec1*、*lec2*、*fus3*和

*agl15*等突变体中过量表达*BBM*时, 体细胞胚的再生会受到不同程度的抑制(Horstman等2017)。与*BBM*属于同一个*AIL*基因亚家族的还包括*AINTEGUMENTA (ANT)*和其他六个*AIL/PLT*基因(Horstman等2014)。在拟南芥中, 这些*AIL*基因在胚胎发育过程及幼苗的根尖或茎尖分生组织中表达, 功能冗余地调控拟南芥的生长(Aida等2004; Mudunkothge和Krizek 2012)。除*BBM*外, *AIL5*是最早证明过量表达后能够诱导体细胞胚和其他器官离体再生的*AIL*基因(Tsuwamoto等2010)。近期的研究表明, 除了在系统遗传学上存在差异的*AIL1*和*ANT*, 其他*AIL*基因过量表达都能诱导体细胞胚的再生(Horstman等2017), 表明多数*AIL*蛋白对诱导体细胞胚胎发生具有功能保守性。

过表达*AP2/ERF*转录因子家族另一成员*WOUND INDUCED DEDIFFERENTIATION 1 (WIND1)*或*RAP2.4*也能够诱导体细胞胚再生(Ikeuchi等2013)。*WIND1*及其同源基因*WIND2-4*在植物组织和器官损伤后能够刺激愈伤组织的形成与细胞增殖(Iwase等2011)。异位表达*WIND1*能够在芽、下胚轴和根上诱导愈伤组织的形成(Iwase等2011), 进一步培养还可以在愈伤组织上诱导离体芽、根或体细胞胚的形成(Ikeuchi等2013)。

转录因子*WUSCHEL (WUS)*在茎尖和花序分生组织的中心细胞中特异表达, 且最早在十六细胞胚时期便开始表达(Mayer等1998)。*WUS*能够维持茎尖分生组织及花序分生组织的稳定, 但在维持根尖分生组织方面没有明显的作用(Laux等1996)。在生长素诱导的拟南芥合子胚发生体细胞胚的过程中, *WUS*在体细胞胚诱导形成之前就在胚性愈伤组织的特定区域细胞中表达(Su等2009)。在*pga6*功能获得型突变体中, *WUS*的同源异型结构域蛋白基因*PLANT GROWTH ACTIVATOR 6 (PGA6)*过量表达能够促进体细胞向全能性细胞转变, 从而在茎尖诱导体细胞胚的产生(Zuo等2002)。以*pga6*功能获得型突变体的根为外植体也可以诱导大量体细胞胚的形成(Zuo等2002), 这些体细胞胚的诱导过程均无需外源的生长素。而敲除*WUS*导致甘蓝型油菜的小孢子无法诱导体细胞胚的形成(Elhiti等2010)。因此, *WUS*过量表达可以改变体细胞的

命运, 使茎尖及根尖细胞向全能性细胞转变, 而这一过程不需要其他胚胎特征基因的协同作用(Zuo等2002)。*WUS*能够将体细胞重编程而转变为全能性细胞的能力为很多再生困难的物种提供了帮助。例如, 在咖啡(*Coffea arabica*)中, 拟南芥*WUS*基因的异位表达促进了激素诱导的胚性愈伤组织的形成, 并将体细胞胚的再生效率提高400倍(Arroyo-Herrera等2008)。在玉米中过量表达*WUS*可以极大提高BBM诱导体细胞胚再生的频率(Lowe等2016)。

*PGA*家族的另一个基因*PGA37/MYB118*编码一个R2R3-MYB转录因子, 该基因在合子胚中特异表达, 可能参与合子胚发育的调控(Wang等2009)。与*pga6*类似, 在*pga37*的功能获得型突变体中, 也能够观察到体细胞胚的形成, 其发生形态与合子胚类似(Wang等2009); 并且突变体组织细胞油脂的含量急剧上升, 与过量表达*LEC1*等胚胎发育相关转录因子有相似的表型(Mu等2008; Wang等2009), 说明*PGA37/MYB118*诱导体细胞胚的形成可能需要*LEC1*等基因的协同作用。过量表达*PGA37/MYB118*后, *LEC1*的表达水平也随之上升, 表明*PGA37/MYB118*对*LEC1*具有激活作用, 从而诱导了体细胞胚的再生(Wang等2009)。

*KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN (KNOX)*转录因子家族在体细胞胚胎发生过程中也发挥重要作用。这个家族的基因能够平衡组织器官模式建成过程中的细胞分裂与分化(Hay和Tsantis 2010)。拟南芥中, *KNOX*由*KNOX I*和*KNOX II*两个分支家族基因组成。其中, *KNOX I*分支由*SHOOTMERISTEMLESS (STM)*、*BRAVIPEDICELLUS (BP)*、*KN1-LIKE IN ARABIDOPSIS THALIANA 2 (KNAT2)*和*KNAT6*四个成员组成, 它们都在胚胎发育过程中起重要作用(Long等1996); 而*KNOX II*分支对胚胎发生和发育的作用尚不清楚(Smertenko等2014)。拟南芥*STM*基因在合子胚发育的三十二细胞胚时期开始表达, 且在体细胞胚诱导形成过程中上调表达(Long等1996)。大豆中的*KNAT2*同源基因*SOYBEAN HOMEODOMAIN-CONTAINING GENE (SBH)*在体细胞胚早期就表达, 在成熟体细胞胚中表达水平最高(Ma等1994)。在拟南芥中异位表达甘蓝型油

菜*STM*同源基因能够促进体细胞胚诱导形成(Elhiti等2010)。欧洲云杉(*Picea abies*) *KNOX I*同源基因*HOMEODOMAIN OF KNOX CLASS (HBK)*被认为是体细胞胚的标记基因, 该基因能够调控体细胞胚胎发生(Hjortswang等2002)。

拟南芥*GROUNDED/RWP-RK4 (GRD/RKD4)*属于自单细胞藻类开始就高度保守的*RWP-RK*家族基因(Schauser等1999), 最初作为共生根瘤发育的关键调控因子被分离出来。*GRD/RKD4*在合子胚发育早期表达, 球形胚以后在胚中不再表达, 只特异地在胚柄细胞中表达。*GRD/RKD4*突变后导致拟南芥合子胚胚柄变小, 胚柄细胞特性丧失(Waki等2011)。然而, 诱导*GRD/RKD4*异位表达能够促进体细胞重编程向快速分裂的胚性状态的细胞转变, 但是只有在后期去除*GRD/RKD4*的异位表达后才能诱导体细胞胚胎发生(Waki等2011), 说明全能性细胞的诱导发生需要降低*GRD/RKD4*的表达水平。

4.3 表观遗传修饰调控体细胞胚胎发生

异位表达特定胚胎发育相关转录因子能够诱导体细胞胚的形成, 这些转录因子在合子胚胎发生阶段通常高水平表达, 而在胚后的营养生长阶段表达水平会显著降低, 以使体细胞正常分化而不干扰植物的正常发育。它们在胚后营养生长阶段可能受到了某些抑制因子的调控, 导致基因的表达受到抑制。研究表明, 突变一些染色质表观修饰因子能够诱导体细胞胚的产生, 这可能是由于通过解除转录因子的抑制作用而提高了其表达水平, 从而启动了体细胞的重编程并获得全能性。DNA甲基化、组蛋白甲基化和乙酰化修饰以及miRNA途径等表观遗传机制都参与了体细胞胚胎发生的调控(Smertenko和Bozhkov 2014)。

DNA甲基化是调节基因转录活性的主要表观遗传修饰方式之一。DNA甲基化介导的基因沉默在体细胞胚胎发生过程中起着关键作用。例如, 在胡萝卜体细胞胚诱导的起始过程中, *LEC1*启动子区域呈现低甲基化水平, 但随着体细胞胚的发育及成熟并向营养生长阶段转变, 其甲基化水平逐渐上升(Shibukawa等2009), 这表明在胡萝卜体细胞胚胎发生的不同阶段, *LEC1*的转录受到DNA

甲基化调控。在培养胡萝卜表皮细胞进行体细胞胚诱导的过程中, 施加DNA甲基化抑制剂能够抑制体细胞胚的形成(Yamamoto等2005)。而在拟南芥的间接体细胞胚胎发生过程中, 结果截然相反, 抑制DNA甲基转移酶的活性能够促进体细胞胚的形成(Elhiti等2010)。说明在不同物种中, DNA甲基化参与体细胞胚胎发生的调控机制并不完全相同。

在动物和植物的发育相关细胞命运决定中, POLYCOMB REPRESSIVE COMPLEX (PRC)蛋白是被广泛研究的表观遗传因子(Laugesen和Helin 2014)。通过建立抑制性的染色质结构, 其可确保减少发育阶段所不需要的基因表达和发育程序的调控(Mozgova等2015)。PRC2是一种组蛋白甲基转移酶, 以蛋白复合物的形式存在, 负责组蛋白H3的第27位赖氨酸的三甲基化(H3K27me3) (Schubert等2006), 而这种修饰是常染色质基因沉默的标志。植物PRC2蛋白复合物包含4个核心亚基, 突变PRC2复合物各个亚基能够引起植物生长发育过程中很多异常的表型。如*FERTILIZATION INDEPENDENT ENDOSPERM (FIE)*基因功能缺失后, 在萌发的幼苗上能够形成愈伤组织(Bouyer等2011)。 *CURLY LEAF (CLF)*抑制许多胚胎发育相关转录因子的表达, 如*AGL15*、*FUS3*和*AIL6/PLT3*等(Liu等2016), 而这些调控因子过表达能够影响体细胞的分化或者直接诱导体细胞胚的产生。因此, 在*clf swn*双突变体中PRC2活性降低启动了胚性愈伤组织的产生, 甚至还能进一步诱导体细胞胚的形成(Chanvivattana等2004)。PRC2的功能缺失本身并不足以诱导体细胞胚胎发生, 但通过外部激素或胁迫处理, PRC2缺失的体细胞可以发生重编程成为全能性细胞。研究显示, PRC2突变体的根毛细胞无法维持分化状态而形成无组织的细胞团, 在该细胞团上还能形成体细胞胚(Ikeuchi等2015), 这表明已分化体细胞的命运可以通过下调PRC2的功能来重置。由于分别过表达*WIND3*和*LEC2*基因也会引起根毛细胞改变其分化命运(Ikeuchi等2015), 因此PRC2功能缺失也可能通过解除其靶基因*WIND3*和*LEC2*的表达抑制作用导致细胞命运的改变。PRC复合物另一个成员PRC1与

PRC2一样都能抑制胚胎发育相关转录因子在种子萌发过程中的表达(Liu等2016; Chen等2010)。PRC1在动植物中普遍存在, 通过其包含染色质结构域的多梳亚基(Pc)与H3K27me3结合, 形成稳定的沉默染色质状态(Chen等2010); 它也通过组蛋白H2A的泛素化来抑制基因的活性。编码PRC1亚基的*AtBMI1a/b*或*AtRING1a/b*的双突变体种子萌发延迟, 不能形成真叶, 能形成胚性愈伤组织和胚状体结构(Bratzel等2010; Chen等2010)。利用生长素合成抑制剂处理*Atring1a/b*后抑制了胚性愈伤组织的形成, 表明在*Atring1a/b*中, 维持正常水平的生长素对于体细胞胚的形成是必需的(Chen等2010)。*Atring1a/b*双突变体中胚状体结构的产生可能与干细胞调控因子*WUSCHEL RELATED HOMEODOMAIN 5 (WOX5)*、*BBM*、*STM*和*WUS*基因的表达上调有关。VP1/ABI3-LIKE1 (VAL1)和VAL2是含有B3结构域的转录因子, 与FUS3和LEC2具有相同的结构域, 还具有可以关联染色质因子的CW和PHD结构域(Suzuki等2007)。VAL蛋白对于PRC1介导的种子成熟相关基因及*BBM*基因的H2A组蛋白泛素化是必需的(Yang和Zhang 2013)。与*Atring1a/b*双突变体表型类似, *val1/2*双突变体同样无法形成真叶, 并且在茎尖与根尖分生组织区域形成胚状体结构(Yang和Zhang 2013), 而*BBM*、*STM*和*WUS*等基因在*val1/2*双突变体中表达也显著上调。研究显示, PRC1靶基因的启动子上存在丰富的VAL蛋白的结合基序, 暗示PRC1可能通过VAL蛋白来招募其靶基因(Merini等2017)。

依赖于组蛋白乙酰化的染色质重塑能够对调控胚胎发育的转录因子进行修饰, 从而调节细胞的增殖及体细胞发生重编程向全能性细胞的转变(Mozgová等2017)。Tanaka等(2008)首次证明了组蛋白乙酰化在体细胞胚胎发生过程中的关键调控作用: 在拟南芥种子的萌发过程中外施组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)抑制剂曲古菌素A (trichostatin A, TSA), 导致幼苗生长发育受阻, 胚胎发育相关转录因子基因*LEC1*、*FUS3*与*ABA INSENSITIVE 3 (ABI3)*等上调表达, 幼苗无法正常分化器官而维持胚性状态。拟南芥组蛋白去乙酰化酶*HISTONE DEACETYLASE 6 (HDA6)*与

*HDA19*的双突变体中能够诱导叶片产生体细胞胚(Tanaka等2008),可能是由*HDA6*与*HDA19*突变后胚胎发育相关转录因子基因表达显著上调导致的。因此,在幼苗营养生长阶段,*HDA6*与*HDA19*能够抑制胚胎发育相关转录因子基因的表达而促进体细胞的分化和器官的发育。研究显示,*HDA19*能够特异地与VAL2蛋白发生互作(Zhou等2013),而*HDA6*被证明与VAL1蛋白也存在直接互作,因此VAL1与VAL2通过招募组蛋白去乙酰化酶结合到胚胎发育相关转录因子的染色质上,从而限制该类基因的表达(Chhun等2016)。拟南芥*PICKLE* (*PKL*)基因编码组蛋白去乙酰化酶复合物的亚基CHD3,当*PKL*功能缺失后,*LEC1*的表达量上调从而引起种子萌发后幼苗维持胚性,向营养生长阶段的转变延迟(Ogas等1999)。以拟南芥成熟合子胚为外植体进行培养,施加TSA能够诱导体细胞胚形成,而无需额外施加生长素(Wójcikowska等2018)。这极有可能是因为TSA处理的外植体中生长素合成基因*YUC1*和*YUC10*的表达显著上调,而促进生长素合成的胚胎发育相关转录因子如*LEC1*、*LEC2*、*BBM*及胁迫响应因子*PGA37/MYB118*等也是显著上调表达的(Wójcikowska等2018)。组蛋白乙酰化能够促进体细胞获得胚胎特性在其他物种的体细胞胚再生体系中也得以证实。例如,利用TSA处理正在萌发的云杉种子,能够让其一直维持胚胎特性,而不再分化为幼苗(Uddenberg等2011)。在甘蓝型油菜雄配子体的体外培养中,TSA也能够促进单倍体体细胞胚的形成(Li等2014)。以上结果表明组蛋白乙酰化在植物种子萌发过程中维持胚性的机制是非常保守的。与H3K27me3一样,组蛋白的乙酰化水平在激素诱导体细胞胚形成的体系中也发生变化(Lee等2016),这也间接表明组蛋白乙酰化对体细胞胚胎发生过程中的细胞重编程发挥了重要调控作用。组蛋白乙酰化可以激活体细胞的胚性程序并形成全能性细胞(Wójcikowska等2018)。

microRNAs (miRNAs)是一类进化上保守的非编码小分子RNA,通过与其靶基因mRNA碱基配对来引导沉默复合体降解mRNA,或通过翻译抑制来介导基因的沉默。在细胞的分化和增殖过程中,

它们可以与转录因子协同作用来调控基因的表达(Willmann等2011)。已有多个实例证明miRNAs在体细胞胚胎发生过程中发挥重要作用。据报道miR393能够通过控制生长素受体*TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1)*和*AUXIN SIGNALING F-BOX 2 (AFB2)*的表达,来调控拟南芥体细胞向全能性细胞的转变(Wójcikowska等2017)。通过对水稻胚性愈伤组织miRNA组学数据的分析,发现miR397和miR398通过介导靶基因沉默在维持细胞分生状态方面具有潜在的作用(Luo等2006)。以日本落叶松(*Larix kaempferi*)为模式系统,Zhang等(2010)鉴定到4个在胚性愈伤组织与非胚性愈伤组织中差异表达的miRNAs,包括miR171、miR159、miR169和miR172,这些miRNAs能够靶向调控发育、脱落酸信号转导及响应非生物胁迫等多种功能的转录因子。miRNAs还能调控在拟南芥胚胎发育过程中起关键作用的转录因子基因*LEC2*与*FUS3*的表达(Willmann等2011)。通过对甜橙体细胞胚胎发生各个阶段的外植体材料进行miRNA组学分析(Wu等2011),鉴定到只在早期体细胞胚中表达的miR156、miR168和miR171,只在球形体细胞胚中表达的miR159、miR164、miR390和miR397,以及只在成熟体细胞胚中表达的miR166、miR167和miR398。这些研究表明,miRNAs通过调控基因在体细胞胚诱导过程中的表达来影响体细胞胚胎发生。与包括合子胚胎发生在内的其他植物发育过程一样,在体细胞胚胎发生的调控中,特定的miRNAs将靶向控制从体细胞向全能性细胞过渡的基因(Wójcik等2017)。

5 结语与研究展望

长期以来,植物细胞全能性一直是科学家们热切关心的关键科学问题之一。体细胞胚胎发生作为细胞全能性的完全体现,是研究细胞全能性的模式系统。最初的体细胞胚胎发生系统利用的就是植物生长调节剂诱导体细胞胚的形成,而生长素类调节剂是最常用的植物激素。体细胞胚胎发生是细胞内压力变化的结果,这与细胞的组织环境或内源性激素平衡的改变有关。细胞从分化的束缚中解放出来,很快又被迫适应新的环境,从

而导致代谢和基因表达的重置,完成细胞命运的重编程。体细胞的重编程是通过在单个体细胞或从胚性细胞团中启动胚胎发生程序,同时获得生长素的自主合成来实现的。研究表明,诱导体细胞胚胎发生的不同转录因子调控及激素调节途径之间也存在交叉的调控关系。通过胚胎发育相关转录因子(如LEC1、LEC2、FUS3、BBM等)或分生组织调控因子(如WUS)能够诱导体细胞胚胎发生,同时参与诱导体细胞胚胎发生的还有伤害修复调节因子(如WIND1),这些转录因子的高水平表达可能促进了内源生长素的合成。诱导体细胞胚胎发生的转录因子突变后,利用2,4-D诱导体细胞胚的效率也会下降,究竟是由于这些转录因子处于生长素信号转导途径的下游起作用,还是由于外植体胚性的改变,导致内源生长素的合成受到抑制,使体细胞胚的诱导受到抑制,目前还没有定论。而且,仅增强内源性的生长素生物合成不足以从已分化的幼苗体细胞中自发诱导体细胞胚。这表明,全能性细胞的诱导和体细胞胚胎发生的启动可能同时需要主要转录因子的高水平表达和高水平生长素的共同作用。

植物在正常生长条件下几乎很难实现自发的体细胞胚胎发生,究其原因,极有可能是这些能够诱导体细胞胚胎发生的发育调控因子或分生组织调控因子受到了某种抑制。这种抑制机制涉及DNA和组蛋白甲基化、组蛋白去乙酰化、miRNA途径等。这些表观遗传因子作用于胚胎发育相关转录因子的基因内部或其mRNA的启动子区域。当胚胎发育相关转录因子基因的表达被解除抑制(如表观遗传因子突变或基因异位过表达)时,它们可以通过生长素生物合成作用于生长素信号通路。生长素信号转导作用于下游靶基因,参与全能性细胞的形成和随后的体细胞胚胎发育。有意思的是,仅单独干扰任何一个上述表观修饰机制(如PRC1、PRC2、组蛋白去乙酰化或PKL相关染色质重构)就足以在合适的组织中诱导体细胞胚胎发生,表明这些抑制机制是相互关联的,也可能相互依赖。染色质的重塑在植物生长过程及对环境胁迫因子的应激反应中都是动态变化的,将发育和胁迫途径整合能够确保植物具有较强的适应

性。胁迫因子诱导的体细胞胚胎发生是植物细胞发育可塑性的一个重要的例子,它通过染色质介导的分子机制来响应外界的信号。在不同物种、外植体及培养条件下的体细胞胚诱导过程中,体细胞中的胚胎发育相关转录因子如何从染色质介导的抑制机制中解脱出来进行高水平表达,目前仍不十分清楚。

综上所述,体细胞胚胎发生过程中体细胞发育命运的重塑是一个由胚胎发育相关转录因子和表观遗传因子组成的调节网络。胚胎发育相关转录因子的异位过表达以及表观遗传因子的突变启动了体细胞的重编程,导致全能性细胞的形成,进而诱导体细胞胚的发生(图1)。植物激素生长素可能在诱导胚胎发育相关转录因子的表达与表观遗传调控网络之间起着关键的连接作用,或调控体细胞胚胎发生所需的下游基因的表达。只要一个因素触发了体细胞重编程网络的一个关键环节,整个网络就可能被激活。但目前我们对体细胞的重编程还是知之甚少,在未来的研究中需要解决许多问题。例如,由于没有精确的分子标记,无法追踪体细胞分化命运的转变及全能性细胞的产生,也无法建立完善的全能性细胞鉴定系统,因此我们还不能确认转化为全能性细胞潜能的体细胞的细胞学和分子生物学特征,也没有直接的证据证明全能性细胞在体细胞胚胎发生中来源于单个体细胞还是多个体细胞组成的细胞团。此外,我们也不清楚全能性细胞进行细胞的增殖和分化,进而发育成体细胞胚的调控过程。这些都将是未来的研究中需要解决的重要问题。

参考文献(References)

- Agila AYC, Guachizaca I, Cella R (2015). Combination of 2,4-D and stress improves indirect somatic embryogenesis in *Cattleya maxima* Lindl. *Plant Biosyst*, 149 (2): 235–241
- Aida M, Beis D, Heidstra R, et al (2004). The *PLETHORA* genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell*, 119 (1): 109–120
- Arroyo-Herrera A, Gonzalez AK, Moo RC, et al (2008). Expression of WUSCHEL in *Coffea canephora* causes ectopic morphogenesis and increases somatic embryogenesis. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 94 (2): 171–180

- Backs-Hüsemann D, Reinert J (1970). Embryobildung durch isolierte Einzelzellen aus Gewebekulturen von *Daucus carota*. Protoplasma, 70 (1): 49–60
- Bai B, Su YH, Yuan J, et al (2013). Induction of somatic embryos in *Arabidopsis* requires local *YUCCA* expression mediated by the down-regulation of ethylene biosynthesis. Mol Plant, 6 (4): 1247–1260
- Barro F, Martin A, Lazzeri PA, et al (1999). Medium optimization for efficient somatic embryogenesis and plant regeneration from immature inflorescences and immature scutella of elite cultivars of wheat, barley and tritordeum. Euphytica, 108: 161–167
- Boutillier K, Offringa R, Sharma VK, et al (2002). Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth. Plant Cell, 14 (8): 1737–1749
- Bouyer D, Roudier F, Heese M, et al (2011). Polycomb Repressive Complex 2 controls the embryo-to-seedling phase transition. PLOS Genet, 7 (3): e1002014
- Bratzel F, López-Torrejón G, Koch M, et al (2010). Keeping cell identity in *Arabidopsis* requires PRC1 RING-finger homologs that catalyze H2A monoubiquitination. Curr Biol, 20: 1853–1859
- Braybrook SA, Stone SL, Park S, et al (2006). Genes directly regulated by LEAFY COTYLEDON2 provide insight into the control of embryo maturation and somatic embryogenesis. Proc Natl Acad Sci USA, 103 (9): 3468–3473
- Chanvivattana Y, Bishopp A, Schubert D, et al (2004). Interaction of Polycomb-group proteins controlling flowering in *Arabidopsis*. Development, 131 (21): 5263–5276
- Chen D, Molitor A, Liu C, et al (2010). The *Arabidopsis* PRC1-like ring-finger proteins are necessary for repression of embryonic traits during vegetative growth. Cell Res, 20 (12): 1332–1344
- Chhun T, Chong SY, Park BS, et al (2016). HSI2 repressor recruits MED13 and HDA6 to down-regulate seed maturation gene expression directly during *Arabidopsis* early seedling growth. Plant Cell Physiol, 57 (8): 1689–1706
- Considine JA, Knox RB (1981). Tissue origins, cell lineages and patterns of cell division in the developing dermal system of the fruit of *Vitis vinifera* L. Planta, 151 (5): 403–412
- Cui KR, Dai RL (2000). Molecular Biology in Plant Somatic Embryogenesis. Beijing: Science Press (in Chinese) [崔凯荣, 戴若兰(2000). 植物体细胞胚发生的分子生物学. 北京: 科学出版社]
- Deng W, Luo K, Li Z, et al (2009). A novel method for induction of plant regeneration via somatic embryogenesis. Plant Sci, 177 (1): 43–48
- Dietz KJ, Vogel MO, Viehhauser A (2010). AP2/EREBP transcription factors are part of gene regulatory networks and integrate metabolic, hormonal and environmental signals in stress acclimation and retrograde signalling. Protoplasma, 245 (1–4): 3–14
- Elhiti M, Tahir M, Gulden RH, et al (2010). Modulation of embryo-forming capacity in culture through the expression of *Brassica* genes involved in the regulation of the shoot apical meristem. J Exp Bot, 61 (14): 4069–4085
- Feeney M, Frigerio L, Cui Y, et al (2013). Following vegetative to embryonic cellular changes in leaves of *Arabidopsis* overexpressing *LEAFY COTYLEDON2*. Plant Physiol, 162 (4): 1881–1896
- Fehér A (2015). Somatic embryogenesis — Stress-induced remodeling of plant cell fate. Biochim Biophys Acta, 1849 (4): 385–402
- Fehér A, Pasternak TP, Dudits D (2003). Transient of somatic plant cells to an embryogenic state. Plant Cell Tiss Org Cult, 74 (3): 201–228
- Florez SL, Erwin RL, Maximova SN, et al (2015). Enhanced somatic embryogenesis in *Theobroma cacao* using the homologous BABY BOOM transcription factor. BMC Plant Biol, 15: 121
- Fry SC, Aldington S, Hetherington PR, et al (1993). Oligosaccharides as signals and substrates in the plant cell wall. Plant Physiol, 103 (1): 1–5
- Gaj MD (2001). Direct somatic embryogenesis as a rapid and efficient system for *in vitro* regeneration of *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Tiss Organ Cult, 64 (1): 39–46
- Gaj MD (2004). Factors influencing somatic embryogenesis induction and plant regeneration with particular reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Plant Growth Regul, 43: 27–47
- Gaj MD, Zhang S, Harada JJ, et al (2005). Leafy cotyledon genes are essential for induction of somatic embryogenesis of *Arabidopsis*. Planta, 222 (6): 977–988
- Gazzarrini S, Tsuchiya Y, Lumba S, et al (2004). The transcription factor *FUSCA3* controls developmental timing in *Arabidopsis* through the hormones gibberellin and abscisic acid. Dev Cell, 7 (3): 373–385
- Gibeaut DM, Carpita NC (1994). Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides. FASEB J, 8 (12): 904–915
- Grosser JW, Gmitter Jr FG (2005). 2004 SIVB congress symposium proceedings “Thinking Outside the Cell”: applications of somatic hybridization and cybridization in crop improvement, with citrus as a model. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 41 (3): 220–225
- Grzybkowska D, Morończyk J, Wójcikowska B, et al (2018). Azacitidine (5-AzaC)-treatment and mutations in DNA methylase genes affect embryogenic response and expres-

- sion of the genes that are involved in somatic embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul*, 85 (2): 243–256
- Haberlandt G (1902). Culturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. *Sitzungsberichte*, 111: 69–91
- Hay A, Tsiantis M (2010). KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development*, 137 (19): 3153–3165
- Hecht V, Vielle-Calzada JP, Hartog MV, et al (2001) The *Arabidopsis* *SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 1* gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. *Plant Physiol*, 127 (3): 803–816
- Heidmann I, de Lange B, Lambalk J, et al (2011). Efficient sweet pepper transformation mediated by the BABY BOOM transcription factor. *Plant Cell Rep*, 30 (6): 1107–1115
- Hjortswang HI, Larsson AS, Bharathan G, et al (2002). *KNOTTED1*-like homeobox genes of a gymnosperm, Norway spruce, expressed during somatic embryogenesis. *Plant Physiol Biochem*, 40 (10): 837–843
- Horstman A, Li M, Heidmann I, et al (2017). The BABY BOOM transcription factor activates the LEC1-ABI3-FUS3-LEC2 network to induce somatic embryogenesis. *Plant Physiol*, 175: 848–857
- Horstman A, Willemsen V, Boutilier K, et al (2014). AINTEGUMENTA-LIKE proteins: hubs in a plethora of networks. *Trends Plant Sci*, 19 (3): 146–157
- Ikeda-Iwai M, Umehara M, Satoh S, et al (2003) Stress-induced somatic embryogenesis in vegetative tissues of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 34 (1): 107–114
- Ikeuchi M, Iwase A, Rymen B, et al (2015). PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 1 (7): 15089
- Ikeuchi M, Sugimoto K, Iwase A (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *Plant Cell*, 25 (9): 3159–3173
- Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, et al (2011). The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 21 (6): 508–514
- Jiang L, Qi XY, Gong HQ, et al (2007). Molecular mechanisms of plant embryogenesis. *Chin Bull Bot*, 24 (3): 389–398 (in Chinese) [蒋丽, 齐兴云, 龚化勤等(2007)。被子植物胚胎发育的分子调控. *植物学报*, 24 (3): 389–398]
- Kadokura S, Sugimoto K, Tarr P, et al (2018). Characterization of somatic embryogenesis initiated from the *Arabidopsis* shoot apex. *Dev Biol*, 442 (1): 13–27
- Kamada H, Kobayashi K, Kiyosue T, et al (1989). Stress-induced somatic embryogenesis in carrot and its application to synthetic seed production. *In Vitro Cell Dev Biol*, 25: 1163–1166
- Karlova R, Boeren S, Russinova E, et al (2006). The *Arabidopsis* *SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE1* protein complex includes *BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE1*. *Plant Cell*, 18 (3): 626–638
- Khanday I, Skinner D, Yang B, et al (2019). A male-expressed rice embryogenic trigger redirected for asexual propagation through seeds. *Nature*, 565: 91–95
- Krishnan SRS, Siril EA (2017). Auxin and nutritional stress coupled somatic embryogenesis in *Oldenlandia umbellata* L. *Physiol Mol Biol Plants*, 23 (2): 471–475
- Kulinska-Lukaszek K, Tobojka M, Adamiok A, et al (2012). Expression of the *BBM* gene during somatic embryogenesis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol Plant*, 56 (2): 389–394
- Kwaaitaal MACJ, de Vries SC (2007). The *SERK1* gene is expressed in procambium and immature vascular cells. *J Exp Bot*, 58 (11): 2887–2896
- Kwong RW, Bui AQ, Lee H, et al (2003). *LEAFY COTYLEDON1-LIKE* defines a class of regulators essential for embryo development. *Plant Cell*, 15 (1): 5–18
- Langhansová L, Konrádová H, Vaněk T (2004). Polyethylene glycol and abscisic acid improve maturation and regeneration of *Panax ginseng* somatic embryos. *Plant Cell Rep*, 22 (10): 725–730
- Laugesen A, Helin K (2014). Chromatin repressive complexes in stem cells, development, and cancer. *Cell Stem Cell*, 14 (6): 735–751
- Laux T, Mayer KFX, Berger J, et al (1996). The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development*, 122 (1): 87–96
- Lee K, Park OS, Jung SJ, et al (2016). Histone deacetylation-mediated cellular dedifferentiation in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol*, 191: 95–100
- Levi A, Sink KC (1990). Differential effects of sucrose, glucose and fructose during somatic embryogenesis in asparagus. *J Plant Physiol*, 137 (2): 184–189
- Li H, Soriano M, Cordewener J, et al (2014). The histone deacetylase inhibitor trichostatin A promotes totipotency in the male gametophyte. *Plant Cell*, 26 (1): 195–209
- Liu J, Deng S, Wang H, et al (2016). *CURLY LEAF* regulates gene sets coordinating seed size and lipid biosynthesis. *Plant Physiol*, 171: 424–436
- Long JA, Moan EI, Medford JI, et al (1996). A member of the *KNOTTED* class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature*, 379 (6560): 66–69
- Lotan T, Ohto MA, Yee KM, et al (1998). *Arabidopsis* *LEAFY COTYLEDON1* is sufficient to induce embryo development in vegetative cells. *Cell*, 93 (7): 1195–1205
- Lowe K, Wu E, Wang N, et al (2016). Morphogenic regulators

- Baby boom* and *Wuschel* improve monocot transformation. *Plant Cell*, 28: 1998–2015
- Luerßen H, Kirik V, Herrmann P, et al (1998). *FUSCA3* encodes a protein with a conserved VP1/ABI3-like B3 domain which is of functional importance for the regulation of seed maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 15 (6): 755–764
- Luo YC, Zhou H, Li Y, et al (2006). Rice embryogenic calli express a unique set of microRNAs, suggesting regulatory roles of microRNAs in plant post-embryonic development. *FEBS Lett*, 580 (21): 5111–5116
- Ma H, McMullen MD, Finer JJ (1994). Identification of a homeobox-containing gene with enhanced expression during soybean (*Glycine max* L.) somatic embryo development. *Plant Mol Biol*, 24 (3): 465–473
- Mantiri FR, Kurdyukov S, Chen SK, et al (2008). The transcription factor MtSERF1 may function as a nexus between stress and development in somatic embryogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant Signal Behav*, 3 (7): 498–500
- Márquez-López RE, Pérez-Hernández C, Ku-González Á, et al (2018). Localization and transport of indole-3-acetic acid during somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. *Protoplasma*, 255 (2): 695–708
- Mayer KFX, Schoof H, Haecker A, et al (1998). Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell*, 95 (6): 805–815
- Merini W, Romero-Campero FJ, Gomez-Zambrano A, et al (2017). The *Arabidopsis* Polycomb Repressive Complex 1 (PRC1) components AtBMI1A, B, and C impact gene networks throughout all stages of plant development. *Plant Physiol*, 173: 627–641
- Michalczuk L, Ribnicky DM, Cooke TJ, et al (1992). Regulation of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in carrot cell cultures. *Plant Physiol*, 100 (3): 1346–1353
- Miguel C, Marum L (2011). An epigenetic view of plant cells cultured *in vitro*: somaclonal variation and beyond. *J Exp Bot*, 62 (11): 3713–3725
- Mikuła A, Tykarska T, Zielińska M, et al (2004). Ultrastructural changes in zygotic embryos of *Gentiana punctata* L. during callus formation and somatic embryogenesis. *Acta Biol Cracov Bot*, 46: 109–120
- Mozgova I, Köhler C, Hennig L (2015). Keeping the gate closed: functions of the polycomb repressive complex PRC2 in development. *Plant J*, 83 (1): 121–132
- Mozgová I, Muñoz-Viana R, Hennig L (2017). PRC2 represses hormone-induced somatic embryogenesis in vegetative tissue of *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet*, 13 (1): e1006562
- Mu J, Tan H, Zheng Q, et al (2008). *LEAFY COTYLEDON1* is a key regulator of fatty acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 148 (2): 1042–1054
- Mudunkothge JS, Krizek BA (2012). Three *Arabidopsis AIL/PLT* genes act in combination to regulate shoot apical meristem function. *Plant J*, 71 (1): 108–121
- Nagata T (2010). A journey with plant cell division: reflection at my halfway stop. In: Lüttge U, Beyschlag W (eds). *Progress in Botany 71*. Berlin, Germany: Springer: 5–21
- Namasivayam P, Skepper J, Hanke D (2006). Identification of a potential structural marker for embryogenic competency in the *Brassica napus* ssp. *oleifera* embryogenic tissue. *Plant Cell Rep*, 25 (9): 887–895
- Nishiwaki M, Fujino K, Koda Y, et al (2000). Somatic embryogenesis induced by the simple application of abscisic acid to carrot (*Daucus carota* L.) seedlings in culture. *Planta*, 211 (5): 756–759
- Ogas J, Kaufmann S, Henderson J, et al (1999). PICKLE is a CHD3 chromatin-remodeling factor that regulates the transition from embryonic to vegetative development in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 13839–13844
- Ohgawara T, Kobayashi S, Ohgawara E, et al (1985). Somatic hybrid plants obtained by protoplast fusion between *Citrus sinensis* and *Poncirus trifoliata*. *Theor Appl Genet*, 71 (1): 1–4
- Oldach KH, Morgenstern A, Rother S, et al (2001). Efficient *in vitro* plant regeneration from immature zygotic embryos of pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] and *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant Cell Rep*, 20 (5): 416–421
- Park YS (2014). Conifer somatic embryogenesis and multi-varietal forestry. In: Fenning T (ed). *Challenges and Opportunities for the World's Forests in the 21st Century*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 425–439
- Rojas-Herrera R, Quiroz-Figueroa F, Monforte-González M, et al (2002). Differential gene expression during somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L., revealed by RT-PCR differential display. *Mol Biotechnol*, 21 (1): 43–50
- Sagare AP, Lee YL, Lin TC, et al (2000). Cytokinin-induced somatic embryogenesis and plant regeneration in *Corydalis yanhusuo* (Fumariaceae) — a medicinal plant. *Plant Sci*, 160 (1): 139–147
- Salo HM, Sarjala T, Jokela A, et al (2016). Moderate stress responses and specific changes in polyamine metabolism characterize Scots pine somatic embryogenesis. *Tree Physiol*, 36 (3): 392–402
- Schauser L, Roussis A, Stiller J, et al (1999). A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules. *Nature*, 402 (6758): 191–195
- Schubert D, Primavesi L, Bishopp A, et al (2006). Silencing by plant Polycomb-group genes requires dispersed

- trimethylation of histone H3 at lysine 27. *EMBO J*, 25 (19): 4638–4649
- Sharma S, Shahzad A, da Silva JAT (2013). Synseed technology—A complete synthesis. *Biotechnol Adv*, 31 (2): 186–207
- Shibukawa T, Yazawa K, Kikuchi A, et al (2009). Possible involvement of DNA methylation on expression regulation of carrot *LEC1* gene in its 5'-upstream region. *Gene*, 437 (1–2): 22–31
- Shivani, Awasthi P, Sharma V, et al (2017). Genome-wide analysis of transcription factors during somatic embryogenesis in banana (*Musa* spp.) cv. Grand Naine. *PLOS One*, 12 (8): e0182242
- Smertenko A, Bozhkov PV (2014). Somatic embryogenesis: life and death processes during apical–basal patterning. *J Exp Bot*, 65 (5): 1343–1360
- Srinivasan C, Liu Z, Heidmann I, et al (2007). Heterologous expression of the *BABY BOOM* AP2/ERF transcription factor enhances the regeneration capacity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Planta*, 225 (2): 341–351
- Stasolla C, Kong L, Yeung EC, et al (2002). Maturation of somatic embryos in conifers: morphogenesis, physiology, biochemistry, and molecular biology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 38 (2): 93–105
- Steward F, Mapes MO, Mears K (1958). Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Am J Bot*, 45 (10): 705–708
- Stone SL, Braybrook SA, Paula SL, et al (2008). *Arabidopsis* *LEAFY COTYLEDON2* induces maturation traits and auxin activity: implications for somatic embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (8): 3151–3156
- Stone SL, Kwong LW, Yee KM, et al (2001). *LEAFY COTYLEDON2* encodes a B3 domain transcription factor that induces embryo development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (20): 11806–11811
- Su YH, Liu YB, Bai B, et al (2015). Establishment of embryonic shoot–root axis is involved in auxin and cytokinin response during *Arabidopsis* somatic embryogenesis. *Front Plant Sci*, 5: 792
- Su YH, Su YX, Liu YG, et al (2013). Abscisic acid is required for somatic embryo initiation through mediating spatial auxin response in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul*, 69 (2): 167–176
- Su YH, Zhao XY, Liu YB, et al (2009). Auxin-induced *WUS* expression is essential for embryonic stem cell renewal during somatic embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 59 (3): 448–460
- Suzuki M, Wang HHY, McCarty DR, et al (2007). Repression of the *LEAFY COTYLEDON 1/B3* regulatory network in plant embryo development by *VPI/ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3-LIKE B3* genes. *Plant Physiol*, 143 (2): 902–911
- Tanaka M, Kikuchi A, Kamada H (2008). The *Arabidopsis* histone deacetylases HDA6 and HDA19 contribute to the repression of embryonic properties after germination. *Plant Physiol*, 146 (1): 149–161
- Taylor MG, Vasil IK (1996). The ultrastructure of somatic embryo development in pearl millet (*Pennisetum glaucum*; Poaceae). *Am J Bot*, 83 (1): 28–44
- Thakare D, Tang W, Hill K, et al (2008). The MADS-domain transcriptional regulator AGAMOUS-LIKE15 promotes somatic embryo development in *Arabidopsis* and soybean. *Plant Physiol*, 146 (4): 1663–1672
- Tisserat B, Esan EB, Murashige T (1979). Somatic embryogenesis in angiosperms. In: Janick J (ed). *Horticultural Reviews*, Volume 1. Westport, Connecticut, United States: The AVI Publishing Company, Inc., 1–78
- Touraev A, Heberle-Bors E (1999). Microspore embryogenesis and in vitro pollen maturation in tobacco. In: Hall RD (ed). *Plant Cell Culture Protocols*. Totowa, New Jersey, United States: Humana Press Inc., 281–291
- Tsuwamoto R, Yokoi S, Takahata Y (2010). *Arabidopsis* *EMBRYOMAKER* encoding an AP2 domain transcription factor plays a key role in developmental change from vegetative to embryonic phase. *Plant Mol Biol*, 73: 481–492
- Uddenberg D, Valladares S, Abrahamsson M, et al (2011). Embryogenic potential and expression of embryogenesis-related genes in conifers are affected by treatment with a histone deacetylase inhibitor. *Planta*, 234 (3): 527–539
- Vasseur J, Dubois J, Hilbert JL, et al (1995). Somatic embryogenesis in chicory (*Cichorium* species). In: Bajaj YPS (ed). *Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed II*. Berlin, Germany: Springer, 125–137
- Verdeil JL, Hoche V, Huet C, et al (2001). Ultrastructural changes in coconut calli associated with the acquisition of embryogenic competence. *Ann Bot*, 88: 9–18
- Verdus MC, Dubois T, Dubois J, et al (1993). Ultrastructural changes in leaves of *Cichorium* during somatic embryogenesis. *Ann Bot*, 72: 375–383
- Waki T, Hiki T, Watanabe R, et al (2011). The *Arabidopsis* RWP-RK protein RKD4 triggers gene expression and pattern formation in early embryogenesis. *Curr Biol*, 21: 1277–1281
- Wang H, Caruso LV, Downie AB, et al (2004). The embryo MADS domain protein AGAMOUS-Like 15 directly regulates expression of a gene encoding an enzyme involved in gibberellin metabolism. *Plant Cell*, 16 (5): 1206–1219

- Wang X, Niu QW, Teng C, et al (2009). Overexpression of *PGA37/MYB118* and *MYB115* promotes vegetative-to-embryonic transition in *Arabidopsis*. *Cell Res*, 19 (2): 224–235
- Willmann MR, Mehalick AJ, Packer RL, et al (2011). MicroRNAs regulate the timing of embryo maturation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 155 (4): 1871–1884
- Wójcik AM, Nodine MD, Gaj MD (2017). miR160 and miR166/165 contribute to the *LEC2*-mediated auxin response involved in the somatic embryogenesis induction in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 8: 2024
- Wójcikowska B, Botor M, Morończyk J, et al (2018). Trichostatin A triggers an embryogenic transition in *Arabidopsis* explants via an auxin-related pathway. *Front Plant Sci*, 9: 1353–1353
- Wójcikowska B, Gaj MD (2017). Expression profiling of *AUXIN RESPONSE FACTOR* genes during somatic embryogenesis induction in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep*, 36 (6): 843–858
- Wu XM, Liu MY, Ge XX, et al (2011). Stage and tissue-specific modulation of ten conserved miRNAs and their targets during somatic embryogenesis of Valencia sweet orange. *Planta*, 233 (3): 495–505
- Yamamoto N, Kobayashi H, Togashi T, et al (2005). Formation of embryogenic cell clumps from carrot epidermal cells is suppressed by 5-azacytidine, a DNA methylation inhibitor. *J Plant Physiol*, 162 (1): 47–54
- Yang X, Zhang X (2010). Regulation of somatic embryogenesis in higher plants. *Crit Rev Plant Sci*, 29 (1): 36–57
- You XL, Yi JS, Choi YE (2006). Cellular change and callose accumulation in zygotic embryos of *Eleutherococcus senticosus* caused by plasmolyzing pretreatment result in high frequency of single-cell-derived somatic embryogenesis. *Protoplasma*, 227 (2–4): 105–112
- Zhang S, Zhou J, Han S, et al (2010). Four abiotic stress-induced miRNA families differentially regulated in the embryogenic and non-embryogenic callus tissues of *Larix leptolepis*. *Biochem Bioph Res Co*, 398 (3): 355–360
- Zhang Z, Zhao H, Li W, et al (2019). Genome-wide association study of callus induction variation to explore the callus formation mechanism of rice. *J Integr Plant Biol*, 61 (11): 1134–1150
- Zheng Q, Zheng Y, Perry SE (2013). AGAMOUS-Like15 promotes somatic embryogenesis in *Arabidopsis* and soybean in part by the control of ethylene biosynthesis and response. *Plant Physiol*, 161 (4): 2113–2127
- Zheng Y, Ren N, Wang H, et al (2009). Global identification of targets of the *Arabidopsis* MADS domain protein AGAMOUS-Like15. *Plant Cell*, 21 (9): 2563–2577
- Zhou Y, Tan B, Luo M, et al (2013). HISTONE DEACETYLASE19 interacts with HSL1 and participates in the repression of seed maturation genes in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell*, 25 (1): 134–148
- Zuo J, Niu QW, Frugis G, et al (2002). The *WUSCHEL* gene promotes vegetative-to-embryonic transition in *Arabidopsis*. *Plant J*, 30 (3): 349–359

Somatic embryogenesis: remodeling of plant somatic cells

TANG Liping, LI Xingguo, ZHANG Xiansheng, SU Yinghua*

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: By appropriate stimuli, plant cells have a powerful capacity to give rise to whole plants without fertilization. This capacity of plant cells is recognized as their totipotency. Somatic embryogenesis is an excellent example of the plant cell totipotency. During this process, the somatic cells are remodeled and converted into totipotent cells for somatic embryo formation. So far, we still know little about the molecular basis for the cell totipotency. In this review, we describe the stimuli, such as plant hormones, stresses, embryonic transcription factors and epigenetic regulation, which are required for the plant somatic cells remodeling. Furthermore, we discuss some outstanding questions to be addressed to deeply understand the mechanisms in plant cell totipotency.

Key words: somatic embryogenesis; cell totipotency; transcription factors; epigenetic regulation

Received 2020-04-21 Accepted 2020-06-18

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31730008 and 31872669), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2017JL016).

*Corresponding author (suyh@sdaa.edu.cn).